

MDA-kb2 šūnas | 305108

Vispārīga informācija

Description

MDA-kb2 šūnu līnija ir cilvēka krūts vēža šūnu līnija, kas iegūta no pieaugušā pacienta. Šīs šūnas ir estrogēnu receptoru (ER) negatīvas un androgēnu receptoru (AR) pozitīvas, tādēļ tās ir vērtīgas pētījumos, kas saistīti ar androgēnu signālceļiem un to ietekmi uz krūts vēzi. MDA-kb2 šūnu līnija tika iegūta no krūts vēža šūnu līnijas MDA-MB-453, veicot stabilu transfekciju ar peles piena dziedzeru audzēja vīrusa (MMTV)-Luc-neo reportergēna konstruktu. Šī ģenētiskā modifikācija ļauj izmantot MDA-kb2 šūnas bioanalīzēs androgēnās un antiandrogēnās aktivitātes noteikšanai, kur tās bieži izmanto in-Luc reporteru analīzēs, pateicoties to stabilai transfekcijai ar a-Luc reportergēnu androgēniem reaģējoša promotora kontrolē.

Pateicoties to specifiskajam receptoru profilam, MDA-kb2 šūnas nodrošina būtisku modeli androgēnu lomas izpētei krūts vēža progresēšanā un potenciālo terapeitisko līdzekļu, kas vērsti uz AR ceļiem, efektivitātes pārbaudīšanai. Šīs šūnas tiek kultivētas Leibovitz L-15 barotnē, kam pievienots 10 % teļa serums, apstākļos, kas neprasa CO₂ papildināšanu, kas ir netipiska īpašība salīdzinājumā ar daudzām citām šūnu līnijām. MDA-kb2 šūnu unikālās īpašības padara tās par neaizstājamu rīku gan pamatpētniecībā, gan farmaceitisko līdzekļu izstrādē, jo īpaši, lai izprastu hormonu receptoru mijiedarbību krūts vēža gadījumā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Krūtis, krūts dziedzeris

Disease

Krūts adenokarcinoma

Metastatic site

Perikarda izvīdums

Synonyms

MDA-Kb2

Raksturojums

Age

48 gadi

Gender

Sievietes

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

MDA-kb2 (Cytion kataloga numurs 305108)

MDA-kb2 šūnas | 305108

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6421**GMO Status** GMO-S1: Šī cilvēka krūts vēža reporteru šūnu līnija (MDA-kb2) satur ugunskrēsliņa-Luc konstruktus, kas ievadīts ar lentivīrusa vektoru un atrodas hormonu reaģējoša promotora kontrolē, tādējādi ļaujot veikt glikokortikoīdu un androgēnu receptoru analīzes. Ievietotais gēns ir stabili integrēts. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.**Biomolekulārie dati****Protein expression** Šī šūnu līnija ekspresē firefly-Luc gēnu MMTV promotora kontrolē, kurā ir atbildes elementi gan glikokortikoīdu receptoriem (GR), gan androgēnu receptoriem (AR)**Darbs ar****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ņemot veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

MDA-kb2 šūnas | 305108

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

MDA-kb2 šūnas | 305108

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.